Aus dem Physiologischen Institut (Hallerianum)
der Universität Bern

Direktor: Prof. Dr. A. von Muralt

Über den photochemischen Zerfall von Vitamin B_1, Thiochrom und Thiazol

Eine neue Methode zur Prüfung photochemischer Prozesse

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern

vorgelegt von

Robert Stämpfli

von Bern

GEDRUCKT BEI STÄMPFLI & CIE., BERN — 1942

Aus dem Physiologischen Institut (Hallerianum)
der Universität Bern

Direktor: Prof. Dr. A. von Muralt

Über den photochemischen Zerfall von Vitamin B_1, Thiochrom und Thiazol

Eine neue Methode zur Prüfung photochemischer Prozesse

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern

vorgelegt von

Robert Stämpfli

von Bern

GEDRUCKT BEI STÄMPFLI & CIE., BERN — 1942

Auf Antrag des Herrn Prof. A. von Muralt zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 15. Juli 1942.

Der Dekan der Med. Fakultät:
i. V.: **Bluntschli**, Prodekan.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Über den photochemischen Zerfall von Vitamin B_1, Thiochrom und Thiazol [1])

Einleitung

Photochemische Vorgänge zu verfolgen, verlangt nicht nur genaues chemisches Arbeiten, sondern auch einwandfreie physikalische Arbeitsbedingungen. Die bisher in der biologischen Chemie und Medizin häufig gebrauchte Ausdrucksweise, ein Stoff werde «durch das Licht der Quecksilberlampe zerstört» (1), muss in Zukunft durch präzisere Angaben über die photochemisch aktiven Wellenlängen und über die Spaltprodukte ersetzt werden.

Was wissen wir bis heute über den photochemischen Zerfall von Aneurin, Thiochrom und Thiazol?

Aneurin wird durch das Licht der Quecksilberlampe und durch Röntgenstrahlen rasch zerstört (1).

Sein Oxydationsprodukt, das intensiv blau fluoreszierende Thiochrom, verliert seine Fluoreszenz bei längerer Bestrahlung mit Woodschem Licht (2).

Das Thiazol, einer der Bausteine des Aneurins, wird durch ultraviolettes Licht in seiner Wirkung im Wachstumstest mit Phycomyces blakesleanus inaktiviert (3). Diese Inaktivierung wird sowohl auf Angreifen des Wasserstoffs in 2-Stellung oder in der 5-Oxyaethylgruppe als auch auf Aufspaltung des eigentlichen Thiazolrings zurückgeführt (4, 5).

Aneurin und Thiochrom, die beide den Thiazolring enthalten, werden also gleich wie dieser selbst von ultravioletten

[1]) Mit Unterstützung der Rockefeller-Foundation New York.

Strahlen angegriffen und aufgespalten. Über die Spaltstücke ist aber in keiner Publikation etwas zu erfahren.

Auch der Pyrimidinring, der andere Baustein des Aneurinmoleküls, ist ultraviolettempfindlich (6).

Bei den zurzeit im Physiologischen Institut in Bern vorgenommenen Untersuchungen über Aktionssubstanzen in Nervenextrakten hat *von Muralt* (7, 8) die Veränderungen des Aneurinpolarogramms bei Bestrahlung mit kurzwelligem Ultraviolett durch Abnahme des Sauerstoffmaximums nachweisen können.

Die vorliegende Arbeit, deren Fragestellung durch die oben erwähnte Arbeitsrichtung am Physiologischen Institut in Bern bedingt ist, sucht in erster Linie nach neuen Methoden, um in einfacher Weise die Wellenlängenabhängigkeit des photochemischen Zerfalls von biologischen Substanzen, im besondern von Aneurin, Thiochrom und Thiazol, zu prüfen. Die chemische Seite des Problems wird dabei nur gestreift und soll in späteren Publikationen mit Hilfe eines Chemikers bearbeitet werden. Die physikalische Seite dagegen hat durch die vorliegenden Untersuchungen eine wesentliche Verbreiterung und Vertiefung erfahren.

Theoretische Betrachtungen über die aktiven Wellenlängen

Das aus dem Jahre 1817 stammende Gesetz von *Grotthus* und *Draper* gibt über die Wellenlänge des photochemisch aktiven Lichts Auskunft:

Ein Stoff zerfällt photochemisch unter dem Einfluss derjenigen Lichtwellenlängen, die er absorbiert. Der Verlauf der Absorptionskurve muss sich also mit dem Verlauf einer «Zerfallskurve», wie sie sich aus der Menge eines Zerfallsprodukts bei verschiedenen Wellenlängen gleicher Intensität aufstellen liesse, decken. Die Absorptionskurve einer Substanz, deren photochemischen Zerfall man untersuchen will, bildet also einen

wichtigen Hinweis auf die Wellenlängen, bei denen man stärkste Bestrahlungswirkung zu erwarten hat.

Absorptionskurven

Über den Verlauf der Absorptionskurve von Aneurin sind verschiedene Resultate veröffentlicht worden. Am besten vergleichen wir sie in der folgenden kleinen Tabelle:

Name der Forscher	pH	Absorptions-maxima in mμ
Peters and *Philpot* (9) . .	sauer	247
Peters and *Philpot* (9) . .	pH 13	233, 335
Heyroth and *Loofbourow* (10)	neutral	236, 265
Smakula (11)	neutral	245, 260
Windaus and *Holiday* (12)	sauer	247
Holiday (12)	sauer	248
Holiday (12)	neutral	234, 268
Wintersteiner, Williams and *Ruehle* (13)	neutral	235, 267
Melnick (14)	7,4	235, 265
Melnick (14)	2,3	243
Windaus, Ruhkopf, Langner und *Schultz* (15)	neutral	235—240, 265—270

Aneurin hat also offenbar eine pH-abhängige Absorptionskurve, eine Eigenschaft, die auf seine Pyrimidinkomponente zurückgeführt werden muss, deren Ultraviolettabsorption in analoger Weise mit dem pH schwankt (3). Im sauren Gebiet, unterhalb pH 5,5, ist nur ein Maximum zwischen 243 und 248 mμ zu erwarten, im Gebiet über diesem Wert zwei Maxima, die sich mit zunehmender Alkalität immer mehr voneinander entfernen.

Die Absorptionskurve des Thiochroms ist seit der grundlegenden Arbeit von *Kuhn* (2) bekannt. Sie zeigt ein ausgeprägtes Maximum bei 375 mμ, ferner eine kleinere Zacke bei

358 mμ. Die Kurve bleibt in wässeriger Lösung und in NaOH gleich, dagegen schwindet im sauren Gebiet das Maximum bei 375 mμ fast vollständig auf Kosten eines kurzwelligeren bei 348 mμ. Die Kurve der Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit von der Wellenlänge entspricht genau der Absorptionskurve.

Thiazol hat ein breites Absorptionsmaximum im Gebiet von 251 mμ (3) bis 253 mμ (16).

Prinzipielle Fragen zur Messung des photochemischen Zerfalls

Viele der bisherigen Arbeiten haben die Wellenlängenabhängigkeit eines photochemischen Prozesses nicht eingehend berücksichtigt. Wohl haben z. B. *Liechti* und *Feistmann* (17) mit einem Monochromator Wirkkurven ultravioletten Lichts auf Askariseier und Bakterien erhalten. Sie hatten aber nicht ein kontinuierliches Spektrum für ihre Untersuchungen zur Verfügung, mit dem sie bei jeder beliebigen Wellenlänge einen Punkt für ihre Schädigungskurve hätten erhalten können. Sie verwendeten ein Hg-Linienspektrum, dessen einzelne Linien ihnen von vorneherein nur eine beschränkte Anzahl relativ weit auseinanderliegender Kurvenpunkte geben konnten. Aus diesem Grunde darf man sich auch nicht ohne weiteres der Auffassung der beiden Verfasser anschliessen, dass die von ihnen gefundene Schädigungskurve für Bakterien wirklich von sichtbarem Licht bis ins äusserste Ultraviolett stetig ansteige. Nach meiner Auffassung hängen solche Schädigungskurven eng mit den Absorptionskurven lebenswichtiger Eiweisse zusammen, so dass sehr wahrscheinlich zwischen den von Liechti und Feistmann gefundenen Kurvenpunkten sich noch Unstetigkeitspunkte, Maxima und Minima, befinden. Diese Frage soll in einer späteren Arbeit mit der hier beschriebenen neuen Methode geprüft werden.

Mehrere andere Autoren haben ähnliche Arbeiten über den Einfluss ultravioletten Lichts auf Aspergillus niger (18) und

Bakterien (19, 20, 21) veröffentlicht, ohne aber die Wirkung kontinuierlich im ganzen Ultraviolettspektrum verfolgt zu haben.

Hausser (22, 23) hat zuerst die Idee gehabt, einen photochemischen Vorgang durch Aufbrennen eines lichtstarken Ultraviolettspektrums auf ein photosensibles System darzustellen. Die erhaltenen Resultate lassen sich dann auswerten, wenn:

1. die entstehenden Zerfallsprodukte am Zerfallsort bleiben und nicht in die Umgebung diffundieren können;
2. mindestens eines der Zerfallsprodukte eine sichtbare Änderung im photosensiblen System hervorruft (Farbe, Fluoreszenz, Trübung usw.);
3. die Intensitätsverteilung im ultravioletten Spektrum der Lichtquelle bekannt ist.

Hausser hat als photosensibles System Bananenschalen und menschliche Haut verwendet, deren zellige Struktur eine rasche Diffusion der Zerfallsstoffe in die Umgebung verhinderte und bei denen die Bräunung bzw. Rötung (Erythembildung) sich leicht verfolgen liess. Als Lichtquelle wurde eine Kohlenbogenlampe verwendet, deren spektrale Intensitätsverteilung mit einem Monochromator und einem Thermoelement bestimmt worden war. Die Intensitätsverteilung wurde nur bei der Bestrahlung dadurch berücksichtigt, dass das Spektralgebiet in zwei Teile unterteilt wurde, mit denen entsprechend ihrer durchschnittlichen Intensität bestrahlt wurde. Dieses Verfahren hat aber seit den Arbeiten *Haussers* wenig Verwendung gefunden. Seine Grundidee, in einem einzigen Bestrahlungsvorgang den photochemischen Zerfall bei allen Wellenlängen eines Spektrums prüfen zu können, bildet den Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit.

Bei den folgenden Untersuchungen über den photochemischen Zerfall von Aneurin, Thiochrom und Thiazol wird diese Idee zu einer neuen Methode ausgebaut, mit der sich eine sehr grosse Anzahl von Stoffen aus der Chemie und Biologie und schliesslich auch lebende Gebilde in bezug auf ihr photochemisches Verhalten werden untersuchen lassen können.

Die neue Methode

Prinzip

Die photosensible Substanz wird mit Hilfe von Stützsubstanzen, wie Gelatine und Agar-Agar, in homogener Schicht auf Glasplatten aufgetragen. Diese Schicht wird in einem möglichst lichtstarken Spektrographen mit dem Spektrum einer besonders intensiven Lichtquelle mit bekannter Intensitätsverteilung bestrahlt. Entstehende Trübungen, Fluoreszenz, Farbänderungen usw. werden nach dem Bestrahlungsvorgang entweder direkt photometriert oder zuerst photographiert und dann die Aufnahme photometriert. Die Wirkungskurven, die man so erhält, sind abhängig von der Intensität, von der Belichtungszeit und von einem durch die Absorption bedingten Wirkfaktor, dessen Wellenlängenabhängigkeit sich bei bekannter Intensitätsverteilung des kontinuierlichen Spektrums berechnen und als eigentliche Wirkkurve zeichnen lässt. Die Kurve des Wirkfaktors muss dem Verlauf der Absorptionskurve der in der photochemischen Platte enthaltenen Stoffe entsprechen. Bei der photometrischen Auswertung photographischer Aufnahmen muss überdies die Schwärzungskurve des Films oder der Platte berücksichtigt werden.

Ausführung

a) Die photochemischen Platten

Bei der Herstellung photochemischer Platten wurde verschieden vorgegangen. Entweder wurden photographische Platten benutzt, deren Gelatineschicht vorher sorgfältig ausfixiert und gewässert worden war. In die so erhaltene Gelatineschicht wurden nun die zu untersuchenden gelösten Substanzen eingebracht und die Platten dann in gequollenem oder getrocknetem Zustand bestrahlt. Trocknen lassen sich die Platten nur, wenn nicht zu grosse Konzentrationen gewählt werden, da sonst die Substanzen oder die Salze der Lösungsmittel (Pufferlösungen) ausfallen. Die Trockenplatte hat gegenüber der «Quellplatte» den grossen Vorteil der geringen Diffusions-

geschwindigkeit der löslichen Zerfallsprodukte. Die «Quellplatte» dagegen benötigt kleinere Belichtungszeiten, wahrscheinlich deshalb, weil die Beweglichkeit der Spaltstücke in der grösseren Menge des Quellungswassers grösser ist.

Ein zweites Verfahren, das wesentlich häufiger angewandt wurde, bestand in der Herstellung von Gelatine- oder Agar-Agar-Lösungen, in welchen die zu untersuchende Substanz gelöst oder suspendiert und aus denen die photosensible Schicht gegossen wurde.

Die Konzentrationen der Gelatine oder des Agar-Agars wurden so gewählt, dass sie bei Zimmertemperatur gelierten — d. h. für Gelatine 2—4 %, für Agar-Agar 1,5—2 %. Diese Lösungen wurden auf Glasplatten aufgegossen und erstarren gelassen. Hierbei muss die Platte sorgfältig ausnivelliert werden. Wir haben zu diesem Zweck ein Quecksilberbad benutzt, auf dem die Glasplatten schwimmen und automatisch nivelliert sind. Die so erhaltenen Schichten sind mit Ausnahme der Randgebiete vollkommen homogen und haben eine Dicke von 0,06—0,1 mm.

b) Die Bestrahlungseinrichtung

Spektograph

Zur Herstellung des Ultraviolettspektrums für die Bestrahlung wurde ein gewöhnlicher Quarzspektrograph für Chemiker [1]) von Fuess, Plattengrösse 10×15 cm, verwendet, dessen Eintrittsspalt für orientierende Bestrahlungen, ebenso wie die Blende, maximal geöffnet wurde, damit nicht unnötig lang bestrahlt werden musste. Die Lichtquelle wurde je nach ihren Eigenschaften direkt vor den Spalt gesetzt oder mit einer Quarzlinse auf ihm abgebildet.

Lichtquellen

Die geeignete und häufig gebrauchte Lichtquelle war die Philips-Hg-Höchstdrucklampe mit Wasserkühlung und gerichteter Strahlung, Typ Sp 500 W.

Diese Lampe besitzt eine grösste Leuchtdichte von 30000 K/cm² und ist in hohem Masse für photochemische Untersuchungen geeignet.

---

[1]) Für die Überlassung dieses Apparates sind wir Herrn Prof. Feitknecht zu Dank verpflichtet.

Ihr kontinuierliches Ultraviolettspektrum ist zwischen ca. 261 und 253 mμ durch die Selbstumkehr der Hg-Resonanzlinie 253,7 mμ mit Temperatur- und Druckverbreiterung unterbrochen. Die grösste Intensität liegt im Gebiet zwischen 370 und 500 mμ, gegen 260 mμ sinkt die Intensität sehr steil ab. Sichtbar bleiben trotz des kontinuierlichen Spektrums noch die Linien bei 312, 302, 296, 289 und 275 mμ, die sich in der Intensitätskurve als Höcker auswirken. Die beste Lichtausbeute wird dann erhalten, wenn die Lampe direkt vor den Spektrographenspalt gesetzt wird.

Da die Kapillare der Lampe nur in horizontaler Lage brennen darf, musste der Spektrograph auf die Seite gekippt werden, um seinen Spalt parallel zur Kapillare zu orientieren und so maximale Ausbeute zu erhalten. Die sehr starke Wärmestrahlung der Lampe bewirkte eine beträchtliche Erwärmung des Spaltes, der durch intensive Luftkühlung begegnet wurde. Die Bestrahlungszeiten mit dieser Lampe betrugen in der Regel 1—60 Minuten, wobei schon nach 5 Minuten bei den meisten Versuchen sehr deutliche photochemische Zersetzung auftrat.

Ein anderer Lampentyp mit kontinuierlichem Spektrum, der vor allem zur Kontrolle der Vorgänge im äussersten Ultraviolett verwendet wurde, war die Wasserstofflampe.

Die spektrale Intensitätsverteilung solcher Lampen ist durch Déjardin und Schwegler (24, 25) sehr eingehend untersucht worden. Das Intensitätsmaximum liegt bei ca. 220 mμ; schon bei 250 mμ werden die verfügbaren Intensitäten so klein, dass man für photochemisches Arbeiten sehr lange bestrahlen muss. Die Lampe (Modell nach Almasy mit 3000 Volt Betriebsspannung bei 400 mA Stromstärke) wurde deshalb auch mehr für orientierende Messungen im äussersten Ultraviolett verwendet und spielt, da die geprüften Substanzen hauptsächlich im Gebiet um 250 mμ absorbieren, in den nachfolgenden Versuchen keine grosse Rolle.

Als weitere Lichtquelle, deren Ultraviolettspektrum mit ausreichender Intensität die Lücke im Bereich der Resonanzlinie ausfüllt, wurde die Philoralampe von Philips verwendet.

Die kleinen Quarzbrenner der Philoralampen eignen sich für diesen Zweck sehr gut, da sie ausser einer kleinen Lücke von etwas mehr als 1 mμ bei der Resonanzlinie ein kontinuierliches Spektrum bis 260 mμ aufweisen, also gerade das bei der Höchstdrucklampe fehlende Stück decken. Ferner haben sie ein intensives kontinuierliches Spektrum im extremen Ultraviolett bis 210 mμ, also wesentlich weiter als die Hg-Höchstdrucklampe. Vor Gebrauch wurde der den Brenner umgebende Glaskolben entfernt.

Sowohl die Philoralampe wie die Wasserstofflampe wurden mit einer Quarzlinse auf dem Spalt des Spektrographen

abgebildet. Die Bestrahlungszeiten für die Wasserstofflampe lagen zwischen 6 und 30 Stunden, ohne dass immer ein Bestrahlungsresultat zu beobachten gewesen wäre. Mit der Philoralampe dagegen kam man mit 1 bis 6 Stunden Bestrahlungsdauer bei Aneurin und Thiazol sehr gut aus.

Rotierender Sektor

Für einige Versuche zur Prüfung des *Bunsen-Roscoeschen* Gesetzes wurde für die Abstufung der Intensitäten ein rotierender Sektor von Zeiss in den Strahlengang eingeschaltet.

c) Intensitätsmessung

Die Intensitätskurven der verschiedenen Lichtquellen wurden direkt hinter dem Spektrographen in der Plattenebene gemessen.

Ein Spalt, der die gleiche Weite wie der Eintrittsspalt des Spektrographen hatte, wurde mit einem Schlitten mit Feinantrieb in der Plattenebene verschoben. Hinter dem Spalt fest montiert befand sich eine Kaliumphotozelle (Pressler-Hochvakuumzelle, an deren Fenster eine fluoreszierende Schicht aus Natriumsalicylat, entsprechend den Angaben von *Déjardin*, *Schwegler* und *Latarjet* (26) aufgetragen war. Diese Fluoreszenzmethode hat sich bei verschiedenen Intensitätsmessungen der genannten Autoren im ultravioletten Spektralgebiet ausserordentlich bewährt, deshalb weil Na-Salicylat im ganzen Ultraviolett, bis unter 200 mμ, eine Fluoreszenz besitzt, die nahezu linear von der Intensität abhängt. Die Verschiebung des Spalts im Spektrum liess sich auf einen Hundertstelmillimeter leicht ablesen, so dass die Intensitätsverteilung des Spektrums mit ausreichender Genauigkeit gemessen werden konnte.

Für die elektrische Messanordnung des Photostromes wurde eine Elektrometerbrücke in der Schaltung nach *Brentano* (27), in der Ausführung von *Kipp und Zonen*, mit zwei Elektrometertrioden verwendet, mit einem Spiegelgalvanometer der gleichen Firma. Zur Kontrolle der erhaltenen Resultate wurde die Photozelle im Eidgenössischen Amt für Mass und Gewicht mit einem Thermoelement verglichen und mit einem Monochromator die Intensitätsverteilung der verschiedenen Lichtquellen (mit Ausnahme der Wasserstofflampe) nochmals mit dem Thermoelement gemessen, soweit die Intensität dazu ausreicht. Diese Eichungen sind noch im Gang, so dass die genaue Auswertung der energetischen Ergebnisse dieser Untersuchungen auf eine spätere Publikation verschoben werden muss.

d) Photometrische Auswertung der Platten

Die bestrahlten Platten wurden, insofern sie nach der Bestrahlung eine im weissen Licht sichtbare Veränderung aufwiesen, mikrophotometrisch gemessen.

Dazu wurde ein Zeissmikroskop mit Präzisionskreuztisch verwendet, auf dem die Platten mit der Mikrometerschraube in der Richtung des Spektrums verschoben wurden. Als Lichtquelle diente eine Zeisslampe für Mikroskope, die über einen Raytheon-Spannungsregler aus dem städtischen Lichtnetz gespiesen wurde. Das so erhaltene Licht war nach einer Einbrenndauer von 30 Minuten über lange Zeitabschnitte praktisch konstant. Durch eine direkt unter der Platte liegende Spaltblende wurde ein feines Lichtbündel ausgeblendet, dessen Richtung parallel zu den gemessenen Spektrallinien verlief. Dieses Bündel bildete den Spalt auf einer Sperrschicht-Okularphotozelle nach Dr. B. Lange (Reichert) vergrössert ab. Die Anordnung war auf Streulicht sehr empfindlich und deshalb für Trübungsmessungen geeignet. Sie liess sich mit Hilfe eines photographisch erhaltenen Hg-Linienspektrums und mit der dem Spektrographen beigegebenen Eichplatte eichen, so dass einer bestimmten Einstellung des Kreuztisches eine bestimmte Wellenlänge zugeordnet werden konnte.

Einige Linienspektren, ferner einige photographische Platten, die zur Prüfung der Absorptionsspektren der verwendeten Substanzen aufgenommen worden waren, wurden auf einem Photometer von *Kipp und Zonen* mit Thermoelement und lichtelektrischer Registriermethode photometriert. Die beim Thiazolzerfall gemachten Fluoreszenzaufnahmen, soweit sie bis jetzt ausgewertet wurden, sind sowohl auf dem Mikrophotometer wie auch auf dem automatisch registrierenden Photometer aufgenommen worden.

Versuchsresultate

1. Nachweis des Aneurinzerfalls

Der Zerfall des Aneurins wurde vorerst mit der Thiochrommethode (28) nachzuweisen versucht.

Vorversuch Nr. II 48

Eine Lösung von 0,02 g Aneurin in 20 ccm destilliertem Wasser wurde in einer Cuvette von 20 mm Schichtdicke mit Quarzfenster

unter stetigem Rühren mit einem elektrischen Rührwerk mit der Hg-Höchstdrucklampe bestrahlt. Distanz ca. 10 cm. Aus der Lösung wurden während der Bestrahlung nach 10, 20, 40 und 80 Minuten je 2 ccm entnommen und in ein Reagensglas abgefüllt. Die Temperatur während der Bestrahlung überstieg nie 30° C. In jedes der Gläser wurden 0,1 ccm eines Gemischs aus gleichen Teilen NaOH und 1%iger $K_3Fe(CN)_6$-Lösung zugegeben und so durch milde Oxydation und Alkalisierung das noch vorhandene Aneurin in Tiochrom übergeführt. Aus jedem Glas wurden hierauf 3 Tropfen auf ein Filtrierpapier getropft und unter der Fluoreszenzlampe die Fluoreszenz der verschiedenen Proben verglichen und photographiert (Tafel I, Abb. 1).

Photometriert man die erhaltenen Schwärzungen mit der beschriebenen Photometriereinrichtung, so erhält man die in Abb. 2 dargestellte Zerfallskurve.

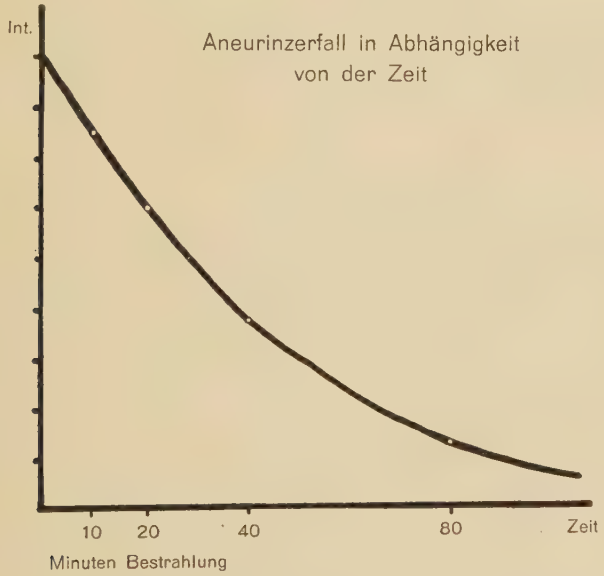

Abb. 2. Zerfallskurve des Aneurins, durch Photometrieren der Schwärzungen von Abb. 1 erhalten.

Dieser erste grobe Versuch zeigt, dass man mit der Thiochrommethode den Aneurinzerfall in Lösungen gut nachweisen kann.

Unsere oben beschriebene Methode ergibt ausgezeichnete Resultate, solange wir es mit Stoffen zu tun haben, deren

Zerfall sich ohne weitere Behandlung der photochemischen Platten direkt im weissen oder im Fluoreszenzlicht verfolgen lässt. Sobald aber ein Entwicklerverfahren nach Art der Thiochrommethode an die Bestrahlung angefügt wird, verschwinden die photochemischen Effekte oder werden verwischt durch die Diffusion der Ausgangsstoffe und der Zerfallsstoffe in die Entwicklerlösung und vom unbestrahlten ins bestrahlte Plattengebiet und umgekehrt.

Die grosse Zahl der Fehlschläge des Thiochromverfahrens hier aufzuzählen, ginge zu weit. Der Vollständigkeit halber sei nur ein Versuchsbeispiel als Beweis dafür aufgeführt, dass sich mit der Thiochrommethode der Aneurinzerfall wohl auf Platten verfolgen lässt, dass sich aber die Methode zur exakten Auswertung nicht eignet, weil die erhaltenen Bilder weder scharf noch homogen in ihrer Fluoreszenz sind.

Versuch Nr. II 43

In 50 ccm destilliertem Wasser wurden 0,05 g Aneurin gelöst. In diese Lösung wurde während 20 Minuten eine ausfixierte und sorgfältig gewässerte photographische Platte gelegt, herausgenommen und am Ventilator getrocknet. In der nun folgenden Bestrahlung mit der Hg-Höchstdrucklampe im Quarzspektrographen wurde mit folgenden Zeiten belichtet: 16, 8, 4, 2, 1, ½ und ¼ Minuten.

Sofort nach der Bestrahlung wurde die Platte nach der Thiochrommethode, wie wir sie für diese besonderen Zwecke abgeändert hatten, entwickelt. Die Platte wurde zuerst rasch in destilliertes Wasser getaucht, die Oberfläche darauf mit einem Filtrierpapier getrocknet und die gequollene Gelatineschicht während 3 Sekunden in die «Entwicklerlösung», bestehend aus einem Gemisch von 20 ccm 1%igem Kaliumferricyanid und 80 ccm n 10 Natronlauge, getaucht. Hierauf wurde zuerst die Oberfläche so rasch wie möglich mit einem Filtrierpapier und nachher die ganze Schicht am Ventilator getrocknet. Das so erhaltene unscharfe und inhomogene Fluoreszenzbild zeigt Tafel I, Abb. 3.

Der Vollständigkeit halber sei noch hinzugefügt, dass bei Bestrahlung mit der Wasserstofflampe das Thiochromverfahren nie eine photochemische Zersetzung des Aneurins ergab. Ein einziges Mal nach siebenstündiger Bestrahlung war sofort nach dem Entwickeln ein schwacher Streifen sichtbar, der aber beim Trocknen der Platte verschwand. Vermutlich sind die ent-

standenen Unterschiede in der Fluoreszenz sehr gering und werden durch den Entwicklungsvorgang ausgewaschen.

Nachweis des Aneurinzerfalls durch Trübung

Wie schon erwähnt wurde, entsteht bei der Bestrahlung von Aneurin ein bläulich-weisser Niederschlag von bis jetzt unbekannter chemischer Zusammensetzung. Er wird bei Bestrahlung von Aneurinlösungen als weisse Trübung beobachtet.

Vorversuch Nr. II 90

Aneurin in 1%iger Lösung in destilliertem Wasser wurde in der Quarzcuvette von Versuch Nr. II 48 mit der Hg-Höchstdrucklampe bestrahlt. Distanz Lampe—Quarzfrontplatte = 17 cm. Elektrische Rührung. Flüssigkeitsmenge 15 ccm. Schon nach 5 Minuten deutliche weissliche Trübung. Nach 20 Minuten wirbeln in der Flüssigkeit auch grössere weissliche Teilchen herum.

Die Lokalisation der Trübung in der Gelatineplatte zeigt folgender Versuch:

Versuch in Photogelatine Nr. II 50

In eine 1%ige Lösung von Aneurin in destilliertem Wasser wurde ein Plattenstreifen einer sorgfältig ausfixierten und in destilliertem Wasser gewässerten Agfa-Isochrom-Platte während 10 Minuten eingelegt. Beim Herausnehmen wurde die Oberfläche der Gelatineschicht rasch getrocknet und die gequollene Platte während 20 Minuten mit dem Spektrum der Hg-Höchstdrucklampe bestrahlt (Versuchsanordnung wie auf S. 10).

Sofort nach der Bestrahlung war auch schon bei Tageslicht eine schwache bläulich-weisse Opaleszenz sichtbar, die als scharfes Bild das durch die Resonanzlinie bedingte Loch im Spektrum der Lampe hervortreten liess. Die Thiochromreaktion (wie auf S. 14) ergab Ausfall der Fluoreszenz in den opaleszierenden Gebieten. Untersuchung im Fluoreszenzlicht eines genau gleich behandelten Plattenstreifens ohne Thiochromreaktion zeigte, dass die weissliche Trübung schwach blau fluoresziert. Die Trübung blieb nach dem Trocknen der Platte bestehen und verschwand auch nicht, nachdem man die Platte zuerst 5 und nachher 10 Minuten gewässert hatte.

Diese beiden Versuche zeigen, dass Aneurin in seinem Ultraviolettzerfall ein Produkt liefert, das sich infolge seiner geringen Löslichkeit beim Bestrahlungsvorgang niederschlägt und das deshalb besonders geeignet sein sollte, quantitativ den Zerfall des Aneurins in Abhängigkeit von der Wellenlänge zu untersuchen.

Es ist sehr wahrscheinlich, dass die in der Gelatine der photochemischen Platte beobachtete Trübung mit der in bestrahlter Aneurinlösung beobachteten Trübung übereinstimmt.

Um auszuschliessen, dass die Gelatine an dieser Trübung beteiligt ist, wurde folgender Versuch mit Agar-Agar ausgeführt:

Versuch Nr. II 83a

1,5 g Agar-Agar wurden in einem Gemisch von 10 ccm Phosphatpuffer nach Sörensen pH 6,8 und 90 ccm 0,16 m KCl unter Erwärmung gelöst und filtriert. Bei 40° C wurden 20 ccm dieser Agarlösung 0,2 g Aneurin beigegeben und aus dieser Aneurin-Agar-Lösung nach der beschriebenen Art eine Platte gegossen. 10 Minuten Bestrahlung mit der Hg-Höchstdrucklampe in der üblichen Anordnung ergaben in bezug auf Farbe und spektrale Verteilung vollkommen analoge Trübungen wie bei Gelatine.

Falls der erhaltene weisse Niederschlag wirklich in Beziehung zur Absorptionskurve des Aneurins steht, muss sich dies in einer pH-Abhängigkeit seiner Verteilung im Spektrum äussern.

Versuche Nr. II 84 und Nr. II 85

Zur Lösung dieser Fragestellung wurden zwei Platten nach dem üblichen Verfahren hergestellt, das eine Mal aber mit Phosphatpuffer pH 2,3, das andere Mal mit pH 7,4. Das Resultat zeigt die photometrische Auswertung in Abb. 4.

Die nach dem *Grotthus-Draperschen* Gesetz zu erwartende pH-Abhängigkeit der Trübung ergibt sich also nur in beschränktem Masse. Die Verteilung der Maxima bleibt in bezug auf die Wellenlängen dieselbe, nur die Gesamtmenge des gebildeten Stoffes sinkt im sauren pH. Dieser Versuch lässt sich so deuten, dass die weisse Trübung nicht ein Zerfallsprodukt des Aneurins ist, sondern dass es einem Zerfallsprodukt des Aneurins, das pH-unabhängige Ultraviolettabsorption besitzt, entstammen muss. Nimmt man eine primäre Aufspaltung des Aneurins im Thiazol und Pyrimidin an, so lässt sich die Trübung nur als Zerfallsprodukt der Thiazolkomponente erklären, da die Pyrimidinkomponente, wie schon erwähnt, eine pH-abhängige Absorptionskurve zeigt. Die in Abb. 4 wiedergegebene Kurve lässt sich also höchstens so deuten, dass Aneurin bei pH 7,4 leichter in die pH-unabhängige Vorstufe

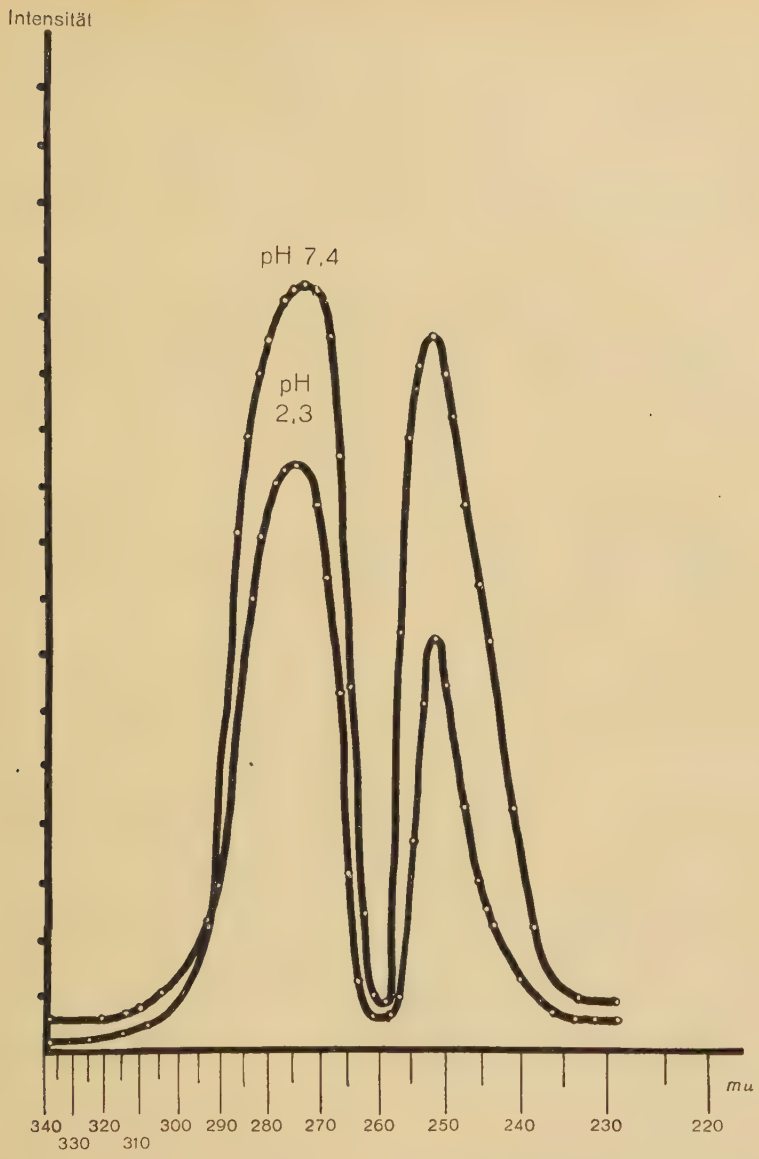

Abb. 4. Die pH-Abhängigkeit des photochemischen Niederschlags beim Aneurinzerfall. Photometrierung des Niederschlags bei pH 2,3 und pH 7,4 bei gleicher Bestrahlungsintensität. Bestrahlungsdauer 60 Minuten. Man beachte die gleiche Lokalisation der Niederschläge bei verschiedener Menge des Niederschlags.

der weissen Trübung zerfällt als bei pH 2,3. Andere Schlüsse lassen sich aus dieser Kurve kaum ziehen.

Es war naheliegend, in einem nächsten Schritt die Zeitabhängigkeit des Zerfalls bei verschiedenen Wellenlängen und verschiedenem pH zu untersuchen.

Versuch Nr. II 85

Die 1%ige Aneurinplatte mit pH 7,4 aus dem letzten Versuch wurde mit den Zeiten 64, 32, 16, 8, 4, 2 Minuten bestrahlt. Hg-Höchstdrucklampe in der bisherigen Anordnung. Die erhaltenen Trübungen zeigt Tafel II, Abb. 5. Ausser dem von 2 Minuten waren alle Trübungsspektren gut zu photometrieren.

Versuch Nr. II 84

Eine 1%ige Aneurinplatte wurde mit Phosphatpuffer pH 2,3 hergestellt. Es wurde mit gleichen Bestrahlungszeiten in genau gleicher Anordnung bestrahlt, so dass angenommen werden durfte, die Intensitäten seien bei beiden Versuchen gleich. Der Kurvenverlauf der Trübungskurven entsprach Abb. 6.

Es wurde nun so vorgegangen, dass die verschiedenen Maxima einer Platte zueinander in Beziehung gebracht wurden, indem willkürlich die Wirkung bei 4 Minuten Bestrahlungsdauer als 1 angenommen und das Zahlenverhältnis der Trübungen ausgerechnet wurde. Dies geschah sowohl für das langwelligere wie für das kurzwellige Maximum. Der Mittelwert aus den beiden Maxima wurde mit einem Sollwert verglichen, der sich bei linearen Beziehungen zwischen Bestrahlungszeit und Trübung hätte ergeben müssen. Dasselbe wurde für die Kurven gleicher Intensität bei pH 2,3 gerechnet. Es ergibt sich folgende Tabelle:

Verhältnis der Zeiten = Sollwert	1	2	4	8	16
Verhältnis der Trübungen:					
bei pH 7,4	1	1,67	2,95	4,27	7,05
bei pH 2,3	1	1,92	3,72	7,06	13,9
Abweichung vom Sollwert in %:					
bei pH 7,4	0	17	26	47	56
bei pH 2,3	0	4	7	12	14

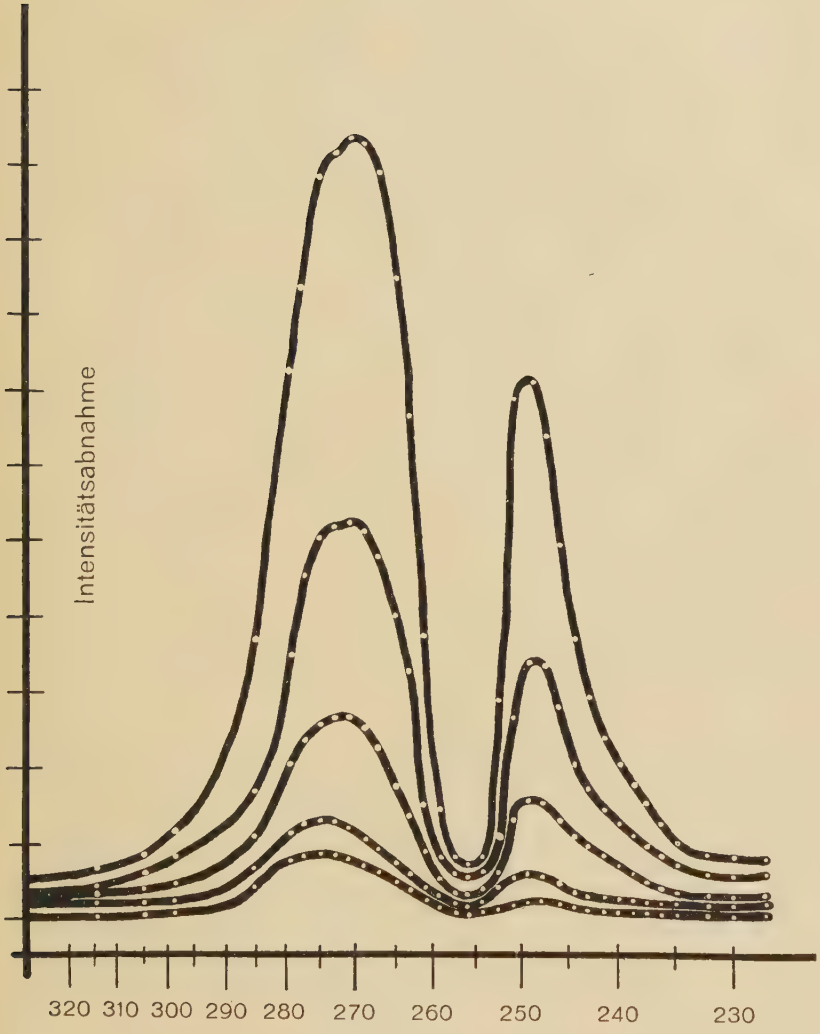

Abb. 6. Aneurinplatte 10^{-2} pH 2,3. Photometrische Auswertung der Trübung. Bestrahlung: Hg-Höchstdrucklampe 64, 32, 16, 8, 4, 2 Minuten. Mikrophotometer mit Okular-Sperrschichtphotozelle.

Die Trübungszunahme ist also bei pH 2,3 in fast linearer Beziehung zur Bestrahlungszeit, während sie bei pH 7,4 sich weit von der linearen Beziehung entfernt. Es ist nicht sicher, dass es sich bei diesem Effekt wirklich um eine spezifische Eigenschaft des Aneurins handelt, weil es nicht ausgeschlossen ist, dass die Gelatine je nach dem pH einen verschiedenen Einfluss auf die Ausfällung des Trübungsstoffes hat. Auf diese Frage soll in einer späteren Arbeit, die sich mit dem Ausbau der hier erwähnten Methode beschäftigen wird, eingegangen werden.

2. Der photochemische Zerfall des Thiochroms

Der Zerfall des Thiochroms lässt sich mit unserer neuen Methode auf äusserst einfache Weise prüfen:

Nach dem Thiochromverfahren entwickelte Aneurinplatten, die homogene Fluoreszenz aufwiesen, wurden mit dem Spektrum der Hg-Höchstdrucklampe in üblicher Weise bestrahlt.

Die blaue Fluoreszenz verschwand in vollkommener Übereinstimmung mit dem Absorptionsspektrum des Thiochroms maximal im Gebiet um 375 mμ.

Gleiche Resultate wurden mit reinem Thiochrom und bei Bestrahlung mit dem Kohlelichtbogen erhalten (Tafel II, Abb. 7).

Dieser Fluoreszenzausfall ist so charakteristisch, dass er eine gute Kontrolle dafür bildet, ob man es mit Thiochrom oder mit anderen blau fluoreszierenden Stoffen zu tun hat.

Auf eine Auswertung der Kurve im Sinne einer Wirkkurve ist verzichtet worden, da die Resultate der Intensitätsmessung mit der Photozelle mit Fluoreszenzfenster in diesem Spektralbereich noch nicht zuverlässig sind. Sobald die Resultate der Intensitätsmessung mit dem Thermoelement im Eidgenössischen Amt für Mass und Gewicht gemacht sein werden, soll in einer weiteren Publikation auf die Wirkkurven zurückgekommen werden.

3. Der photochemische Zerfall des Thiazols

Die früher ausgesprochene Vermutung, die weisse Trübung des Aneurinzerfalls sei ein Thiazolzerfallsprodukt, führte uns

zum eingehenden Studium des photochemischen Zerfalls von 4-Methyl-5-Oxyaethyl-Thiazol [1]), dem im Aneurin enthaltenen Thiazolkörper.

Vorversuch Nr. II 88

In der Quarzcuvette (S. 12) wurde eine Menge von 5 ccm Thiazollösung 1%ig, pH 7,2 (Phosphatpuffer) 10 Minuten in 17 cm Distanz mit der Hg-Höchstdrucklampe bestrahlt. Schon nach 4 Minuten war eine deutliche Violettfärbung der Flüssigkeit zu erkennen, die bei 10 Minuten Bestrahlungsdauer ausserordentlich intensiv wurde. Bei dieser Bestrahlungszeit war auch eine geringe Opaleszenz bemerkbar, die aber mit der Trübung beim Aneurinzerfall nicht zu vergleichen war. Das pH sank im Verlauf der Bestrahlung auf 6,9. Im Licht der Fluoreszenzlampe ergab sich eine ausserordentlich starke, blaue Fluoreszenz der bestrahlten Lösung.

Einer kleinen Probe dieses blau fluoreszierenden Bestrahlungsproduktes wurde eine kleine Menge Natriumhydrosulfit zugegeben. Beim Schütteln ergab sich sofort ein Fluoreszenzverlust, der sich bei weiterem Schütteln unter Zutritt von Luftsauerstoff als reversibel erwies.

Beim Schütteln mit Isobutylalkohol ging der grösste Teil des blauen Fluoreszenzstoffes in den Alkohol. Beim Eindampfen des Alkohols blieb eine bräunliche, sirupartige Flüssigkeit zurück, die noch den charakteristischen Thiazolgeruch hatte, jedoch intensiv blau fluoreszierte. Der Übergang vom neutralen ins alkalische pH durch Zugabe von NaOH oder ins saure durch Zugabe von HCl war ohne Einfluss auf die Fluoreszenz.

Der nächste Schritt war die Festlegung der Verteilung dieses blauen Bestrahlungsprodukts im Ultraviolettspektrum:

Versuch Nr. II 107

0,2 g Thiazol wurden in 20 ccm einer Gelatine-Phosphatpufferlösung pH 2,3 gelöst und, nachdem filtriert worden war, zu einer photochemischen Platte gegossen. Die Bestrahlung erfolgte in üblicher Anordnung mit der Hg-Höchstdrucklampe, aber mit engerem Spalt als bisher (0,25 mm), mit folgenden Zeiten: 16, 8, 4, 2, 1 Minuten. Das Resultat zeigt die 4 Minuten nach der Bestrahlung gemachte Fluoreszenzaufnahme (Tafel II, Abb. 8).

Die nächsten Versuche galten der Feststellung, ob das blau fluoreszierende Bestrahlungsprodukt des Thiazols gleich wie

---

[1]) Der Firma Hoffmann-La Roche & Cie. AG., Basel, sei an dieser Stelle für die grosszügige Überlassung von Aneurin, Thiochrom und Thiazol für unsere Versuche gedankt.

das Thiochrom in irgendeinem Bereich des ultravioletten Spektralgebietes seine Fluoreszenz verliere.

Versuch Nr. II 105

0,2 g Thiazol gelöst in 8 ccm Phosphatpuffer pH 2,3 wurden in einer Quarzcuvette mit 0,6 cm Schichtdicke durch eine Hanauer Quarzlampe bestrahlt. Distanz 6 cm, elektrische Rührung. Bestrahlungsdauer 30 Minuten. Die intensiv blau fluoreszierende Lösung wurde einer Lösung von 0,5 g Gelatine Gold Extra in 12 ccm Phosphatpuffer pH 2,3 zugegeben und damit bei 20° C eine photochemische Platte gegossen. Die stark blau fluoreszierende Platte wurde in gequollenem Zustand mit der Philoralampe bestrahlt. Distanz Quarzbrenner—Spalt = 30 cm, Linse—Spalt = 9,4 cm. Öffnung des Spaltes 0,25 mm. Bestrahlungszeiten 32, 16, 8, 4, 2 Minuten. Es ergab sich eine deutliche Intensivierung der Fluoreszenz bei den Hg-Linien, wobei die obere Grenze der Fluoreszenzerscheinung bei 370, die untere Grenze bei 238 mμ gelegen war. Überdies war bei den höchsten Bestrahlungszeiten eine schwache weissliche Trübung im Gebiet der Linie 266 mμ und im anschliessenden kontinuierlichen Abschnitt bei 258 mμ inklusive Hg-Resonanzlinie entstanden. Eine Kontrollbestrahlung mit der Hg-Höchstdrucklampe ergab ein ähnliches Bild wie Abb. 7 ohne weisse Trübung.

Schon nach 1 Stunde war vom Fluoreszenzbild des Hg-Linienspektrums nichts mehr zu sehen, d. h. die Platte fluoreszierte gleichmässig, ohne Unterschiede zwischen bestrahltem und unbestrahltem Gebiet.

Beim Bestrahlen von Thiazol entsteht also vorerst ein intensiv blau fluoreszierendes Bestrahlungsprodukt, das sich gleich wie Thiochrom zu einer reversiblen Leukoverbindung reduzieren und mit Isobutylalkohol ausschütteln lässt. Es ist im Gegensatz zu Thiochrom pH-beständig und wird durch langwelliges Ultraviolett nicht zerstört. Seine Diffusionsgeschwindigkeit ist wesentlich grösser als die des Thiochroms.

Das in Abb. 7 erreichte Bestrahlungsresultat ist überraschend. Die Bildung des Fluoreszenzstoffes muss energetisch auf einer ganz anderen Basis stehen als die Bildung der Trübungen bei Aneurin oder der Fluoreszenzverlust von Thiochrom; denn trotz wesentlich kleinerer Intensität als sonst (Spaltweite 0,25 mm statt 1,25 mm) erhalten wir bei einer Bestrahlungszeit von 1 Minute noch einen sehr deutlichen und über weite Abschnitte des Ultraviolettspektrums ausgedehnten

photochemischen Effekt. Im Vergleich mit Thiochrom fällt die wesentlich grössere Diffusionsgeschwindigkeit auf: Thiochrom, in gequollenen Platten bestrahlt, gibt den charakteristischen Fluoreszenzausfall bei 375 mμ, der sich nur sehr langsam verwischt. Nach einigen Tagen erst hat sich ein Konzentrationsgleichgewicht in der Platte wieder hergestellt. Der blaue Fluoreszenzstoff des Thiazols dagegen diffundiert in der gequollenen Gelatineplatte sehr rasch in die Umgebung, so dass schon nach einigen Stunden spätestens keinerlei Fluoreszenzunterschiede mehr in der Platte festgestellt werden können.

(Die gequollenen Platten wurden für diese Beobachtungen in einem mit Wasserdampf gesättigten Raum bei 1° C aufbewahrt.)

4. Weitere photochemische Effekte

Bis jetzt haben wir die Möglichkeit der Beteiligung der Gelatine an den beschriebenen photochemischen Erscheinungen bewusst vernachlässigt. Dazu waren wir in gewisser Hinsicht durch die Erfahrungen der Photographie berechtigt, bei der ja die Gelatineabsorption erst im kurzwelligsten Teil des mit der Quarzoptik bestreichbaren Spektralgebiets eine Rolle zu spielen beginnt. *Trivelli* (29) hat seinerzeit mitgeteilt, Gelatine werde durch Anfeuchten sogar im Schumann-Gebiet durchlässig. Da Gelatine je nach ihrer Herstellungsart eine recht verschiedene Zusammensetzung hat, sind auch die Publikationen über ihre Ultraviolettabsorption zahlreich und widersprechend. *Vlès* und *Cohn* (30) haben zwei Absorptionsbanden der Gelatine beschrieben. Die eine, bei 274 mμ, soll bei saurer Reaktion und die andere, bei 256 mμ, bei alkalischer Reaktion stärker hervortreten. Eine pH-Abhängigkeit der Absorption scheint sehr wahrscheinlich zu sein (29, 31). Der Anstieg der Gelatineabsorptionskurve bei 250 mμ gegen das extreme Ultraviolett ist bei Gelatinegelen kleiner als bei Gelatinesolen (33). Ferner ist auch die praktisch wichtige Gerbung der mit Chromatoren behandelten Gelatine eingehend, allerdings ohne Berücksichtigung der aktiven Wellenlängen, untersucht worden (33, 34,

35, 36, 37, 38). Es wird vermutet, dass bei diesen Vorgängen Eisenspuren in der Gelatine als Katalysatoren wirken (39). Der Einfluss ultravioletter Strahlen auf Gelatine wurde von *Tian* (40) beschrieben. Er fand, dass trockene Gelatine und verdünnte Lösungen durch Ultraviolett überhaupt nicht verändert, Gallerten dagegen durch Strahlen unter 300 mμ Wellenlänge verflüssigt oder, in Gegenwart von Wasser, gelöst würden. Diese Angabe ist das einzige, was ich über die Lokalisation der aktiven Wellenlängen im ultravioletten Spektrum in der Literatur habe finden können.

In unseren Versuchen wurden folgende Veränderungen der Gelatine beobachtet:

1. Fluoreszenzverlust. Photogelatine und Handelsgelatine bester Qualität (Gold Extra) zeigen beide an den belichteten Stellen des langwelligen Ultravioletts und sogar im sichtbaren Gebiet einen Verlust der Eigenfluoreszenz, der sich als dunkler Bereich deutlich von der unbestrahlten Umgebung abhebt. Diese Veränderung wird im Bereich von 600 bis 300 mμ mit wechselnder Intensität beobachtet, am stärksten zwischen 360 und 400 mμ.

2. Trübung und Braunfärbung. Die erwähnten Gelatinesorten zeigen bei langer Bestrahlungsdauer mit besonders intensiven Lichtquellen (Hg-Höchstdrucklampe) eine im Fluoreszenzlicht schwach sichtbare Bräunung und Trübung im Gebiet zwischen 260 und 290 mμ. Dieser Effekt lässt sich steigern, wenn man Tryptophan oder Tyrosin in die Gelatine hineindiffundieren lässt. Deshalb wird vermutet, es handle sich um eine durch die Ultraviolettabsorption von Aminosäuren bedingte Trübung der Gelatine.

3. Reliefbildung. Ähnlich wie bei der Solarisation von mit Chromatoren behandelter Gelatine entsteht auf der mit grosser Intensität bestrahlten Gelatineplatte ein Relief des Spektrums, das von 241 bis 211 mμ reicht. Die untere Grenze dieses Wertes ist durch die Quarzoptik bedingt und hat mit den wahren Eigenschaften der Gelatine wahrscheinlich nichts

zu tun. Vielleicht handelt es sich bei dieser Veränderung um die von Tian beschriebene Verflüssigung, die sich nach neueren Auffassungen wohl eher als Abspaltung von Seitenketten vom Gelatinemolekül auffassen lässt. Dadurch wird die Grösse des Inter- und Intramicellarraums (41) verkleinert und Quellungswasser frei.

4. Gerbung. Bei aus Handelsgelatine gegossenen Platten blieb beim Abwaschen der Schicht mit warmem Wasser ein Teil der bestrahlten Gelatine im Bereich von 290 bis 210 mμ zurück, d. h. seine Löslichkeit war gegenüber der unbestrahlten Gelatine herabgesetzt.

Offenbar hat unter dem Einfluss des ultravioletten Lichts, vielleicht im Zusammenhang mit Eisengehalt der Gelatine, in diesen Spektralbereichen eine Gerbung begonnen.

Vergleichsversuche mit Agar-Agar lieferten keinerlei sichtbare Veränderung.

Bei Versuchen mit Indikatoren wurde zufällig gefunden, dass Neutralrot bei pH 10 durch Bestrahlung einen intensiv gelbgrün fluoreszierenden Farbstoff gibt, und zwar in gleichmässiger Verteilung von 550 bis 230 mμ, mit Ausnahme eines schmalen Bandes um 360 mμ, bei dem die Farbe mehr gelbbraun ist. Der Erscheinung konnte aus Zeitmangel nicht nachgegangen werden.

Die Strahlenhämolyse wurde in einer Arbeit, gemeinsam mit *Wilbrandt* (42), ebenfalls nach der hier beschriebenen Methode geprüft.

Die Kurve des Wirkfaktors

Der Wirkfaktor (S. 8) konnte nur provisorisch für Aneurin und Thiazol aus dem Trübungsverfahren berechnet werden. Die definitiven Kurven können aber erst nach Beendigung der Intensitätsmessungen im Eidgenössischen Amt für Mass und Gewicht aufgestellt werden. Es erübrigt sich deshalb, auf Einzelheiten der Ausrechnung einzugehen oder die erhaltenen

Kurven zu reproduzieren. Es sei nur erwähnt, dass die Werte des Wirkfaktors trotz beträchtlicher Intensitätsunterschiede auf einer gleichmässigen Kurve liegen, so dass angenommen werden darf, die Intensitätsmessung mit der Fluoreszenzphotozelle habe in der Proportion richtige Werte ergeben.

Für Aneurin bei pH 2,3 liegt das Maximum der Kurve bei 253 mμ. Dieser Wert würde schön mit der Absorptionskurve des Thiazols übereinstimmen, das ja nach unseren früher begründeten Vermutungen vielleicht die Vorstufe des Trübungsstoffs ist.

Thiazol gibt aber mit der Trübungsmethode ein Maximum bei 259 mμ. Es ist nicht ausgeschlossen, dass diese Verschiebung nach oben mit der Absorption der Gelatine zusammenhängt. In diesem Falle wäre das Aneurinmaximum von 253 mμ wohl auch nach oben verschoben und entspräche dem effektiven Absorptionsmaximum des Aneurins bei pH 2,3 von 247 mμ.

Es bleibt aber vorderhand bei Vermutungen. Klarheit über diese Fragen wird erst die definitive Intensitätsverteilung im Spektrum und eine genaue Absorptionsmessung der Gelatine geben, nach deren Berücksichtigung dann in einer nächsten Publikation die effektiven Kurven des Wirkfaktors gegeben werden können.

Schlusswort

Da die Versuchsergebnisse an Ort und Stelle kommentiert sind, ferner aber einzelne Ergebnisse noch ergänzender Prüfung bedürfen, wird in dieser Arbeit auf eine eingehende Diskussion der bisherigen Resultate verzichtet.

Die Methode hat aber schon auf Grund der vorliegenden Resultate so viel Neues gebracht, dass an ihrer Verwendbarkeit zur Prüfung photochemischer Vorgänge kaum mehr gezweifelt werden kann. Die Erweiterung der Anwendungsgebiete und die Vereinfachung und Verbesserung des Verfahrens soll weiteren Arbeiten zum Ziel gesetzt werden. Für die vielen wert-

vollen Anregungen und die grosszügige Ermöglichung dieser Arbeit bin ich Herrn Prof. A. von Muralt zu grösstem Dank verpflichtet.

Zusammenfassung

Eine neue Methode zur Untersuchung photochemischer Prozesse wird beschrieben:

Photosensible Substanzen werden in Gelatineschichten im Spektrographen bestrahlt und die entstandene Trübung, Farbänderung, Fluoreszenz oder Fluoreszenzverlust durch photometrische Messungen bestimmt. Bei Kenntnis der spektralen Intensitätsverteilung der Lichtquelle und des durch die Absorption der Gelatine zu erwartenden Intensitätsverlustes kann aus einem einzigen Wirkspektrum die effektive Wirkkurve gefunden werden, die durch die Absorption des photosensiblen Stoffs bedingt ist.

Aneurin, Thiochrom und Thiazol wurden nach der neuen Methode untersucht.

Aneurin gibt in der Gelatineschicht im Gebiet zwischen 245 und 290 mμ ein schwerlösliches, bläulich-weisses Bestrahlungsprodukt, dessen Lokalisation im Spektrum vom pH unabhängig ist, dessen Menge aber bei pH 7,4 grösser ist als bei pH 2,3.

Thiazol gibt einen intensiv blau fluoreszierenden, bisher unbekannten Stoff im Gebiet zwischen 370 und 235 mμ, der, wie das Thiochrom, durch Natriumhydrosulfit reversibel zu einer Leukoverbindung reduziert wird und sich mit Isobutylalkohol ausschütteln lässt. Im Gegensatz zu Thiochrom ist er aber auch im sauren pH in seiner Fluoreszenz beständig und zerfällt nicht unter dem Einfluss von langwelligem Ultraviolett bei 375 mμ. Er wird von gewissen Pflanzenzellen, wie das Thiochrom, resorbiert und wird von Schopfer als «primäres, vitales Fluorochrom» bezeichnet [1]).

Aus diesem Fluoreszenzstoff entsteht bei weiterer Bestrahlung ein weisslicher Niederschlag, der in bezug auf seine

[1]) Schriftliche Mitteilung von Prof. W. H. *Schopfer*.

Lokalisation im Spektrum und sein Aussehen dem Aneurinzerfallsstoff gleicht.

Thiochrom verliert seine Fluoreszenz bei 375 mμ entsprechend seiner Absorptionskurve.

Als Nebenbefunde werden Veränderungen von Gelatine und Neutralrot unter dem Einfluss ultravioletter Strahlen beschrieben und die aktiven Wellenlängen angegeben.

Weitere Arbeiten werden in Aussicht gestellt.

Literatur

1. *Grewe, R. E.*, E. d. Physiol. *39*, 192 (1937).
2. *Kuhn und Mitarbeiter*, Z. physiol. Chem. *234*, 197 (1935).
3. *Uber, F. M.*, and *Verbrugge, F.*, J. Biol. Chem. *136*, 197 (1935).
4. *Robbins, W. J.*, and *Kavanagh, F.*, Proc. Nat. Acad. Sc. *24*, 145 (1938).
5. *Bonner, J.*, and *Erickson, J.*, Am. J. Bot. *25*, 685 (1938).
6. *Uber, F. M.*, and *Verbrugge, F.*, J. Biol. Chem. *134*, 273 (1940).
7. *v. Muralt, A.*, Verh. Schweiz. Physiol. Lausanne 1941.
8. — Pflügers Arch. *245*, 604 (1942).
9. *Peters, R. A.*, and *Philpot, J. St.*, Proc. Roy. Soc. Lond. B. *113*, 48 (1933).
10. *Heyroth, F. F.*, and *Loofbourow, J. R.*, Biochem. J. *30*, 651 (1936).
11. *Smakula, A.*, Z. physiol. Chem. *230*, 231 (1934).
12. *Holiday, E. R.*, Biochem. J. *29*, 718 (1935).
13. *Wintersteiner, O.*, *Williams, R. R.*, and *Ruehle, A. E.*, J. am. chem. Soc. *57*, 517 (1935).
14. *Melnick, J. L.*, J. Biol. Chem. *131*, 615 (1939).
15. *Windaus, Ruhkopf, Langner* und *Schultz*, Z. Physiol. Chem. *204*, 113 (1932).
16. *Ruehle, A. E.*, J. Am. Chem. Soc. *57*, 1887 (1935).
17. *Liechti, A.*, und *Feistmann, E.*, Strahlenter. *62*, 393 (1938).
18. *Zahl, P. A.*, *Koller, L. R.*, and *Haskins, C. P.*, J. Gen. Physiol. *22*, 689 (1939).
19. *Koller, L. R.*, J. Appl. Physics *10*, 624 (1939).
20. *Holländer, A.*, and *Duggar, B. M.*, J. Bacter. *36*, 17 (1938).
21. *Hart, D.*, *Devine, J. W.*, and *Martin, D. W.*, Arch. Surg. *38*, 806 (1939).
22. *Hausser, K. W.*, und *Vahle, W.*, Strahlenter. *13*, 41 (1922).
— Strahlenter. *28*, 25 (1928).
— Wissenschaftl. Veröff. aus dem Siemenskonzern *6*, 101 (1927).
Hausser, K. W., und *v. Oehmke, H.*, Strahlenter. *48*, 223 (1933).
23. *Hausser, Isolde*, Strahlenter. *62*, 315 (1938).
Hausser, Isolde, und *Ueberle, A.*, Strahlenter. *62*, 323 (1938).
— Z. angew. Chem. *51*, 204 (1938).
— Naturw. *26*, 137 (1938).
24. *Déjardin, G.*, et *Schwegler, R.*, Rev. Opt. *13*, 313 (1935).
25. — Rev. Opt. *13*, 353 (1935).

26. *Latarjet, R.*, Rev. Opt. *16*, 171 (1937).
27. *Brentano, J.*, Philosoph. Mag. *17*, 370 (1934).
28. *Gstirner, F. R.*, Chemische Vitaminbestimmungsmethoden, Enke Verlag, Stuttgart, 1939.
29. *Baker, T.*, and *Davidson, L.*, Nature *118*, 172 (1925).
30. *Vlès, F.*, and *Cohn, C.*, Physiol. Abstr. *11*, 330 (1926).
31. *Baker, T.*, and *Davidson, L.*, Nature *116*, 172 (1925).
32. *Kusters, J. F. H., de Boer, J. H.*, and *Dippel, C. J.*, Rec. trav. chim. Pays-Bas.
33. *Lumière, A.*, et *Seyewetz, A.*, Photogr. Korresp. *6*, 75, 112, 293 (1906).
34. *Neuberg, C.*, Biochem. Z. *13*, 310 (1908).
35. *Trivelli, A. P. H.*, Photogr. Korresp. *11*, 29, 182 (1911).
36. — Koll. Z. *9*, 241 (1911).
37. *Lüppo-Cramer*, Koll. Z. *9*, 22 (1911).
38. *Harris, D.*, Biochem. J. *20*, 288 (1926).
39. *Brintzinger, H.*, und *Maurer, K.*, Koll. Z. *41*, 46 (1927).
40. *Tian, A.*, Compt. rend. *151*, 219 (1910).
41. *Weidinger, A.*, und *Pelser, H.*, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas *59*, 64 (1940).
42. *Stämpfli, R.*, und *Wilbrandt, W.*, Verh. Schweiz. Physiol. Juni 1942.

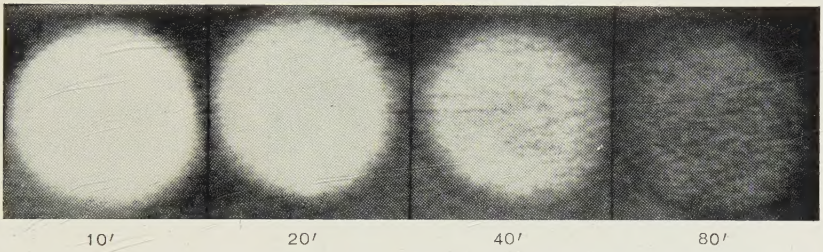

Abb. 1. Aneurinzerfall in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit, sichtbar durch Abnahme der Fluoreszenz in der Thiochromreaktion. Filtrierpapier, auf das Proben der verschiedenen bestrahlten Lösungen getropft wurden.
Fluoreszenzaufnahme, Herotarfilter, Blende 9, Belichtung 3 Minuten.

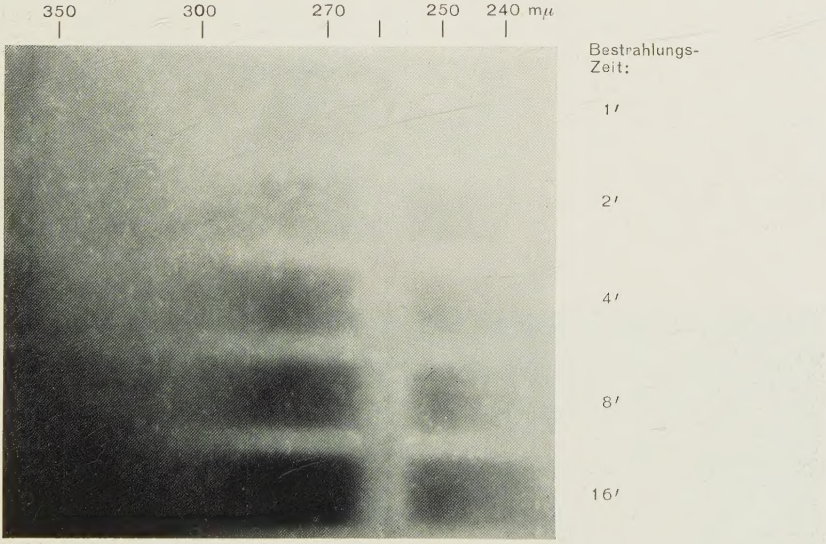

Abb. 3. Aneurinplatte 10^{-3}, Thiochromentwickler 1:5, 3 Sekunden. Bestrahlung: Hg-Höchstdrucklampe direkt, Spalt 1,25 mm. Blende 50.
Fluoreszenzaufnahme, Herotarfilter, Blende 6, Belichtung 3 Minuten.

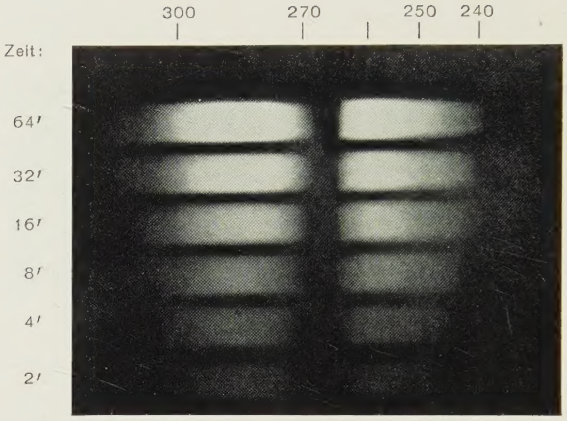

Abb. 5. Aneurinplatte 10^{-2} pH 7,4. Bestrahlung: Hg-Höchstdrucklampe. Photo: weisses Licht, Blende 9, 2 Sekunden belichtet.

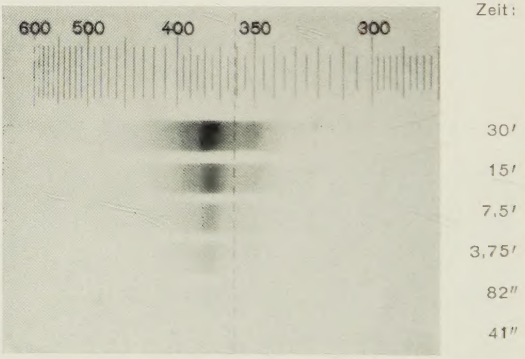

Abb. 7. Fluoreszenzausfall bei Bestrahlung von Thiochrom. Photogelatine in Thiochromlösung 10^{-3} pH 8. Bestrahlung: Kohlelichtbogen. Fluoreszenzaufnahme: Herotarfilter, Blende 9, 3 Minuten belichtet.

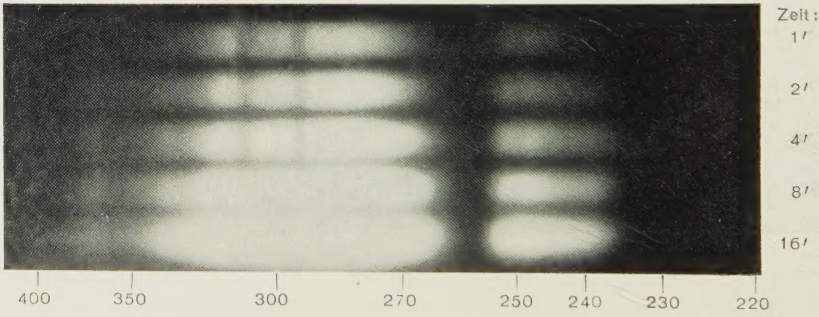

Abb. 8. Thiazolplatte 10^{-2} pH 2,3. Fluoreszenzaufnahme, Herotarfilter, Blende 6,3, 3 Minuten belichtet. Man beachte die starke Diffusion des Fluoreszenzstoffes beim längstbelichteten Spektrum und den Unterschied der Verteilung im Spektrum und der Bestrahlungszeiten gegenüber der weissen Trübung in Abb. 5.